

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **05317406 A**(43) Date of publication of application: **03.12.93**

(51) Int. Cl.

A61L 27/00
A61F 2/10
(21) Application number: **04127532**(22) Date of filing: **20.05.92**(71) Applicant: **TERUMO CORP**(72) Inventor: **OYAMADA KO**
KOIDE MIKIO(54) **ARTIFICIAL SKIN**

(57) Abstract:

PURPOSE: To produce an artificial skin base material allowed to implant onto a part of a lost skin by making a non-proliferative fibroblast derived from an animal on a porous membrane base material while a signal layer of a skin base cell yet to be differentiated is arranged.

CONSTITUTION: A 3T3 cell which is made non-proliferative by irradiation with γ rays is seeded onto a porous membrane base material to be cultivated and then, a skin cell is seeded to be incubated at a

specified temperature. As a result, the skin cell yet to be differentiated is arranged to be a signal layer to obtain an artificial skin that allows the implantation of a cell portion onto a wound face of a part of a lost skin without peeling cells off the porous membrane. An example of the porous membrane is that made of polyolefin or the like produced by polymerizing one polymer or more selected from alkoxy alkyl acrylates. A sample of the fibroblast existing on the porous membrane is mouse lung fibroblast, (3T3), human skin fibroblast or rat skin fibroblast.

COPYRIGHT: (C)1993,JPO&Japio

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-317406

(43)公開日 平成5年(1993)12月3日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 27/00	C	7180-4C		
A 6 1 F 2/10		7180-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 2(全 6 頁)

(21)出願番号	特願平4-127532	(71)出願人	000109543 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目44 番 1 号
(22)出願日	平成 4 年(1992) 5 月20日	(72)発明者	小山田 香 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内
		(72)発明者	小出 幹夫 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内

(54)【発明の名称】 人工皮膚

(57)【要約】

【構成】 多孔質膜基材上に増殖性がない動物由来の線維芽細胞を存在させ、更に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在している、または、表面を親水化処理した多孔質膜基材上に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在していることを特徴とする人工皮膚。

【効果】 本発明の人工皮膚を皮膚欠損部へ移植すると、治癒過程を著しく短縮することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 多孔質膜基材上に増殖性がない動物由来の線維芽細胞を存在させ、更に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在していることを特徴とする人工皮膚。

【請求項 2】 表面を親水化処理した多孔質膜基材上に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在していることを特徴とする人工皮膚。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【産業上の利用分野】 本発明は、火傷の皮膚創傷等を治療するために用いられる新規な人工皮膚及びその製造方法に関する。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】 動物細胞の培養技術は、インターフェロン、リンフォカイン、各種の成長ホルモンや細胞増殖因子などの生理活性物質、生体由来材料及び治療ワクチンなどの生産手段としてあるいは細胞組込型人工臓器の基本技術として欠かせぬものであり、近年これらの物質を高効率かつ大量に生産する高密度培養法が注目されている。

【 0 0 0 3 】 動物細胞において、特に生存・増殖・目的物質の生産のために人工もしくは天然の基材に接着することが「接着依存細胞」の高密度培養では、細胞を培養する基材表面が細胞の接着性や増殖性の優れた表面であることが必要となってくる。また、細胞の生存や目的物質の生産能を維持するために、細胞にとって良好な環境を維持することが重要となり、このため栄養素や酵素の供給及び老廃物の除去を連続的に行うことが必要となってくる。

【 0 0 0 4 】 前者の基材表面への細胞接着性に関しては、組織培養用プラスチックシャーレとして通常使用しているポリスチレン系材料や適度の電荷密度を有する表面が優れていることが知られている。特開平 2 - 1 6 9 7 2 号にスチレン-ジビニルベンゼンの架橋重合体を表面に保持させた多孔質膜が開示されており、また適度な電荷密度を有する表面については、ジャーナル オブ セオロジカル バイオロジー (Journal of Theological Biology)、第 4 9 巻、ページ 4 1 7 ~ 4 2 4 (1 9 7 5) : アドヘション アンド スプレッディング オブ セルズ オンチャージド サーフェス (Adhesion and Spreading of Cells on Charged Surfaces) に記載されている。また各種の高分子材料表面に低温プラズマ処理、スパッタリング処理、紫外線処理、電子線処理、単分子累積膜の被覆処理などの表面処理を施した材料 (特公昭 5 8 - 3 2 5 8 9、特開昭 6 3 - 1 9 8 9 6 7、特開昭 6 3 - 1 9 8 9 7 7、特開平 1 - 1 5 1 3 3 など) や、コラーゲン、フィブロネクチン、ヒドロネクチン、ラミニン等の細胞接着因子や細胞増殖因子などで処理した材料 (例えばトランス アメリカン ソサエティ オブ アーティフィシャル オルガニズ (Trans A

merican Society of Artificial Organs (1 9 8 7)、第 3 3 巻、ページ 6、スコラリー レビューズ (Scholarly Reviews) “セル アドヘッション ツー バイオマテリアルズ (Cells Adhesion to Biomaterials)” も検討されている。

【 0 0 0 5 】 しかし、高分子材料にポリスチレンを用いて、上記表面処理を施した場合、ポリスチレンには良好な細胞接着性が付与されるが、物性が脆弱なため、厚さの薄いフィルム状物や高密度培養に適した多孔質膜に成形することは困難であるという欠点が生じる。また、細胞培養基材が膜厚 1 0 0 μ m 程度の「多孔質膜」という特殊な形状であると、一般的に行われている表面処理では「膜物性の劣化」や「孔径の閉塞化」等の問題が生じるものが多かった。

【 0 0 0 6 】 また、基材表面をコラーゲンや細胞間マトリックス (ECM)、細胞接着因子などで処理することにより肝細胞等の細胞の接着性や伸展性が向上するが、これらの方法では使用前に無菌的にコーティング処理を施さなければならず、そのため操作が煩雑となるという欠点がある。また、雑菌混入の可能性が増える点からも上記方法は好ましいとは言えない。さらに、高密度培養による有用物質の生産を考えると、大量の膜を使用するため、コラーゲンや細胞接着因子の必要量が増大し、経済的観点から問題点を有している。

【 0 0 0 7 】 一方、高密度培養細胞の育成環境維持については、多孔質膜を用いる方法が優れていると考えられている。すなわち、多孔質平膜を積層したり、中空糸を束ねることにより限られた容積内に多くの表面積を確保でき、更に、生命活動に必要な物質の供給や異物の除去を多孔質膜の微小な孔を介して連続的に拡散もしくは膜間の圧力差により強制的に行うことによって良好な育成環境を維持することが可能となる。特に、上皮細胞や内皮細胞のように極性を有する細胞の場合、栄養源の吸収や代謝が生理的条件と同様に接着基質側から行われることは、細胞にとって好ましいことである。

【 0 0 0 8 】

【発明が解決しようとする課題】 皮膚は唯一直接外界に接している臓器であり、最下層に分裂能を有する基底細胞層、その上層にある基底細胞が徐々に分化してできた有刺層・顆粒層そして最外層の角質層から成り立っている。基底細胞は分化するにつれ、細胞が扁平化し、細胞質中にケラチンを蓄積し、最終的には完全にケラチンとなり、外界に排泄される。このように皮膚のような上皮系の基底細胞には、真皮側から栄養を補給し角質層に向けて排泄するという細胞内分極が存在する。このような特性から表皮基底細胞は、プラスチックシャーレ上で培養すると基材との接着面より栄養補給ができず、培養を続けていくと徐々に基材から剥離し死んでしまう。従って、この細胞内分極という表皮細胞の特性を生かすためには、細胞が接着している部分から栄養を摂取できなけ

ればならない。このため、物質透過性を持つ細胞培養用基材が望まれる。コラーゲンからなる膜では、物質透過性のないコラーゲン基材（プラスチックシャーレにコラーゲンをコートしたもの）に比べ、表皮基底細胞が長期保持が可能であったという報告がある（ジャーナル セル セイエンス, Journal Cell Science, 第 9 1 号、ページ 4 9 1 ~ 4 9 9 (1 9 8 8) ）。しかし、コラーゲン膜は栄養を補給できるだけの物質透過性もなく、また物理的に不安定であり、更に表皮基底細胞が生産するコラゲナーゼにより分解する可能性がある。

【 0 0 0 9 】また、近年培養移植法あるいは培養皮膚とも言える皮膚に近い材料の移植法が行われてきている。これは重度の患者を対象として、患者の残された正常部位の皮膚を採取して、単離した細胞を試験管内で培養を行い、もとの細胞の数十倍から数百倍に増殖したのち、被覆膜とともに患者の創傷部位に移植してやり、表皮化を形成させ治癒を図るものである。この方法を臨床に応用した例として、ガリコら [G. G. Gallico et al.,] の研究（ニューイングランド ジャーナル オブメディスン, 第 3 1 1 巻、第 7 号、4 4 8 ~ 4 5 1 頁） [New England Journal Medicine, vol 311, No7, p448~451(1984)] がある。

【 0 0 1 0 】それに対して、人工材料による細胞培養用基材は上記のコラーゲン膜の欠点を補うものとして市販されているが、表皮基底細胞の接着性が低く、人工材料において物質透過性膜の利点を補うものでは未だにない。

【 0 0 1 1 】

【課題を解決するための手段】本発明は上記事情を鑑み、移植者の表皮細胞を生体外の基材上で培養して、そのまま皮膚欠損部に移植することができる人工皮膚基材を提示することを目的とする。

【 0 0 1 2 】上記目的は以下の構成による本発明により達成される。

【 0 0 1 3 】(1) 多孔質膜基材上に、増殖性がない動物由来の線維芽細胞を存在させ、更に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在しており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚。

【 0 0 1 4 】(2) 線維芽細胞がマウス肺線維芽細胞 (3 T 3)、ヒト皮膚線維芽細胞とラット皮膚線維細胞の少なくとも 1 つから選ばれる (1) に記載の人工皮膚。

【 0 0 1 5 】(3) 多孔質膜がアルコキシアルキルアクリレートより選ばれる 1 種以上の重合体をグラフト重合されたポリオレフィン及び一部もしくは全ての水素がハロゲン化されたポリオレフィンよりなる群から選ばれた少なくとも 1 種のものを主成分とする (1) または (2) に記載の人工皮膚。

【 0 0 1 6 】(4) 多孔質膜の平均孔径が 0. 0 1 ~

1. 0 μ m である (1) から (3) のいずれかに記載の人工皮膚。

【 0 0 1 7 】(5) 多孔質膜基材上に、 γ 線を 0. 0 3 Mrad 照射して増殖性のない状態にした 3 T 3 細胞を $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells/cm² 播種し培養した後、更に表皮細胞を $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells/cm² (1 % 牛胎児血清を含むカルシウム・フリーな DME 培地に懸濁) の範囲で播種し、37℃でインキュベートすることにより、未分化の表皮細胞を単層化させ、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚の製造方法。

【 0 0 1 8 】又、本発明は下記の構成によっても達成される。

【 0 0 1 9 】(6) 多孔質膜基材上に未分化の表皮基底細胞が単層化されて存在しており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚。

【 0 0 2 0 】(7) 多孔質膜がアルコキシアルキルアクリレートより選ばれる 1 種以上の重合性単量体をグラフト重合されたポリオレフィン及び一部もしくは全ての水素がハロゲン化されたポリオレフィンよりなる群から選ばれた少なくとも 1 種のものを主成分とする (6) に記載の人工皮膚。

【 0 0 2 1 】(8) 多孔質膜の平均孔径が 0. 0 1 ~ 1. 0 μ m である (6) または (7) に記載の人工皮膚。

【 0 0 2 2 】(9) 多孔質膜がプラズマ放電処理されていることを特徴とする (6) から (8) のいずれかに記載の人工皮膚。

【 0 0 2 3 】(1 0) 多孔質膜基材上に、表皮基底細胞を $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ cells/cm² (1 % 牛胎児血清を含むカルシウム・フリーな DME 培地に懸濁) の濃度で播種し、更に 37℃でインキュベートすることにより、未分化の表皮細胞を単層化させ、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚の製造方法。

【 0 0 2 4 】本発明において、物質透過性のある膜は平均孔径 0. 0 1 ~ 1. 0 μ m の貫通孔を有する多孔質膜であるのが好ましい。このような膜としては、特に限定するものではないが、好ましくはポリプロピレンなどのポリオレフィンやポリフッ化ビニリデンなどのハロゲン化ポリオレフィンが望ましく、更に上記の多孔質膜は疎水性であるため、親水化されているのが望ましい。これ以外の膜としては、ナイロン、ポリサルフォン、ポリビニルテフタレート、ニトロセルロース、再生セルロース、酢酸セルロースなどがある。

【 0 0 2 5 】本発明に係わる人工皮膚は、多孔質膜基材上に、 γ 線あるいはマイトマイシン C で処理された増殖性がない動物由来の線維芽細胞が存在し、更に未分化の表皮基底細胞が単層化されており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植するこ

とを可能にするものである。この際に用いる多孔質膜は、細胞増殖性、親水性、柔軟性の優れたポリアルコキシアルキルアクリレートが表面グラフト重合され、良好な細胞接着性、耐脆弱性、親水性を施すことが望ましい。また、ポリアルコキシアルキルアクリレートは、カチオン性やアニオン性の極性基を分子内に持たない適度な親水性を有しているため、材料表面に吸着されるタンパク質も静電的相互作用や疎水性相互作用がマイルドとなり、そのため細胞に対して良好な成育環境が維持されやすい。

【0026】また、アルコキシアルキルアクリレートを構成成分とする重合体が、グラフト鎖として基材表面に共有結合により導入されていると、コーティングや架橋剤を用いた不溶化による被覆と異なり、重合体層が溶出したり剥離することがなくなる。また、基材となる材料が親水化処理された多孔質膜であると、事前に親水化処理することなく使用することができ、更に培養液が膜の孔に浸入し、通過できるようになり、膜上での高密度培養が可能となる。

【0027】また、 γ 線あるいはマイトマイシンCで処理された増殖性がない動物由来の線維芽細胞が存在すると、少量の表皮基底細胞を播種するだけでよい。この人工皮膚を作製するには、まず移植すべき患者の皮膚の一部をデルマトームで剥離し、表皮と真皮に分け、また予め多孔質膜基材上に γ 線処理より増殖性のない状態にした3T3細胞を $10^1 \sim 1 \times 10^5$ cells/cm² 播種し、1日培養した後更に表皮基底細胞を $10^1 \sim 1 \times 10^5$ cells/cm² の範囲で播種し、特に1%牛胎児血清を含むカルシウム・フリーなDME培地を使用して、37℃で3~7日間位培養すると、自然に3T3細胞が多孔質膜基材上から離脱し、直接単層化した未分化の表皮細胞が多孔質膜基材上に接着することにより、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚が得られる。

【0028】また、本発明に係わる人工皮膚は、多孔質膜基材上に未分化の表皮基底細胞が単層化されており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することを可能にするものである。この際に用いる多孔質膜は、細胞増殖性、親水性、柔軟性を付与するため、アルコキシアルキルアクリレートより選ばれる1種以上の重合性単量体をグラフト重合されたポリオレフィン及び一部もしくは全ての水素がハロゲン化されたポリオレフィンよりなる群から選ばれた少なくとも1種のものを主成分とするものが好ましい。この人工皮膚を作製するには、まず移植すべき患者の一部をデルマトームで剥離し、表皮と真皮に分け、更に表皮基底細胞を $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^6$ cells/cm² の範囲で多孔質膜基材上に播種し、特に1%牛胎児血清を含むカルシウム・フリーなDME培地を使用すると37℃でインキュベートすることにより、未分化の表皮細胞が単層化するこ

とができ、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することが可能な人工皮膚が得られる。

【0029】本発明において用いる線維芽細胞は特に限定されないが、好ましくはマウス肺線維芽細胞(3T3)、ヒト皮膚線維芽細胞とラット皮膚線維細胞が良い。

【0030】本発明において用いる表皮基底細胞は特に限定されないが、好ましくはヒト皮膚、特に好ましくは本発明の人工皮膚を移植される患者本人の皮膚がよい。

【0031】以下、実施例を示し、本発明を具体的に説明する。

【0032】

【実施例】

(実施例1) メルトフローインデックスが30及び0.3のポリプロピレン混合物(混合重量比100:40)100重量部当り、400重量部の流動パラフィン(数平均分子量324)及び0.3重量部の結晶核形成剤としての1, 3, 2, 4-ビス(p-エチルベンジリデン)ソルビトールを二軸型押出機により熔融し、ペレット化した。このペレットを上記押出機を用いて150~200℃で熔融し、スリット幅0.6mmのTダイより空气中に押し出し、Tダイ直下に置かれた冷却液相のガイドローラーの回転によって冷却固化液中に導き、冷却固化して巻き取った。

【0033】巻き取ったフィルム状物を一定長に切断し、縦横両方向を固定し、1, 1, 2-トリクロロ-1, 2, 2-トリフルオロエタン中に10分間計4回浸漬して流動パラフィンの抽出を行い、次いで135℃の空气中で10分間計4回浸漬して流動パフィンの抽出を行い、次いで135℃の空气中で2分間処理を行って、孔径0.45 μ m、膜厚120 μ mのポリプロピレン製多孔質膜を得た。

【0034】このようにして得られた多孔質膜に低温プラズマ(アルゴン、0.1ton)を15秒間照射した後、メトキシエチルアクリレートの単量体をガス状で供給し、288Kの温度で5分間表面グラフト重合を行った。グラフト重合後、未反応の単量体を減圧脱気して、0.01ton以下にし、更にプラズマ放電処理を0.1ton、20秒間(100W)を行った。このようにして得られた膜をジクロロメタン/メタノール共沸溶媒で2日間洗浄した後乾燥させた。

【0035】一方、予め3T3細胞(種類NIH、大日本製薬(株)より入手、ATCC No.CRL1658)を10%CS(Calf Serum)-DME(Dulbecoo's Modified Eagle Medium)懸濁液を 3×10^5 cells/mlに調整し、180秒間 γ 線を照射した後、1000r.p.m.5分間遠心分離し、最終的に 8×10^4 cells/cm²で上記で作製した多孔質膜基材上に播種した。更に、1日培養後、培養液を除去し、ヒト新生児皮膚から酵素処理により採取した

ヒト角化細胞を1%牛胎児血清を含むカルシウム・フリーなDME培地に懸濁し、 1×10^4 cells/cm² で播種し、二酸化炭素雰囲気下でインキュベーターにて7日間培養人工皮膚①を作製した。

【0036】当該人工皮膚①を皮膚欠損創を作製したヌードマウスに未分化の表皮細胞を創面側にして移植すると、21日目には生着したことが組織学的に確認できた。

【0037】(実施例2)ポリフッ化ビニリデン粉末(三菱油化(株)製、Kynar K301)18重量部をアセトン73.8重量部及びジメチルホルムアミド8.2重量部に溶解してなる溶液を、ポリエチレンテレフタレートフィルム上にキャストした後、1, 1, 2-トリクロロトリフルオロエタン浴中に5分間浸漬し、乾燥して膜厚125 μ m、平均孔径0.45 μ mのポリフッ化ビニリデン製多孔質膜を得た。

【0038】このようにして得られた多孔質膜に実施例1と同様に表面グラフト重合及びプラズマ放電処理までの処理を行い、得られた試料について実施例1と同様にしてヒト表皮細胞を播種し7日間培養し、人工皮膚②を作製した。

【0039】当該人工皮膚②をヌードマウスに移植した結果、表皮細胞を生着した。

【0040】(実施例3)メルトフローインデックスが30及び0.3のポリプロピレン混合物(混合重量比100:40)100重量部当り、400重量部の流動パラフィン(数平均分子量324)及び0.3重量部の結晶核形成剤としての1, 3, 2, 4-ビス(p-エチルベンジリデン)ソルビトールを二軸型押出機により熔融し、ペレット化した。このペレットを上記押出機を用いて150~200℃で熔融し、スリット幅0.6mmのTダイより空气中に押し出し、Tダイ直下に置かれた冷却液相のガイドローラーの回転によって冷却固化液中に導き、冷却固化した後巻き取った。

【0041】巻き取ったフィルム状物を一定長に切断し、縦横両方向を固定し、1, 1, 2-トリクロロエタン中に10分間計4回浸漬して流動パラフィンの抽出を行い、次いで135℃の空气中で10分間計4回浸漬して流動パラフィンの抽出を行い、次いで135℃の空气中で2分間熱処理を行って、孔径0.45 μ m、膜厚120 μ mのポリプロピレン製多孔質膜を得た。このようにして得られた多孔質膜に低温プラズマ(アルゴン、0.1Torr)を15秒間照射した後、メトキシエチルアクリレートの単量体をガス状で供給し、288Kの温度で5分間表面グラフト重合を行った。グラフト重合後、未反応の単量体を減圧脱気して、0.01ton以下にし、更にプラズマ放電処理を0.1ton、20秒間(100W)行った。このようにして得られた膜をジクロロメタン/メタノール共沸溶媒で2日間洗浄した後乾燥させた。

【0042】この多孔質膜基材上に、ヒト皮膚から酵素処理により採取したヒト角化細胞を1%牛胎児血清を含むカルシウム・フリーなダルベッコ改変イーグル培地(DME)に懸濁し、 1×10^5 cells/cm² で播種し、二酸化炭素雰囲気下でインキュベーターにて7日間培養し、人工皮膚③を作製した。

【0043】当該人工皮膚③を皮膚欠損創を作製したヌードマウスに未分化の表皮細胞を創面側にして移植すると、21日目には生着したことが組織学的に認識できた。

【0044】(実施例4)ポリフッ化ビニリデン粉末(三菱油化株式会社製、Kynar K301)18重量部をアセトン73.8重量部及びジメチルホルムアミド8.2重量部に溶解してなる溶液を、ポリエチレンテレフタレートフィルム上にキャストした後、1, 1, 2-トリクロロトリフルオロエタン浴中に5分間浸漬し、乾燥して膜厚125 μ m、平均孔径0.45 μ mのポリフッ化ビニリデン製多孔質膜を得た。

【0045】このようにして得られた多孔質膜に実施例1と同様に表面グラフト重合及びプラズマ放電処理までの処理を行い、得られた試料について実施例1と同様にしてヒト表皮細胞を播種し、7日間培養し、人工皮膚④を作製した。当該人工皮膚④をヌードマウスに移植した結果、表皮細胞は生着した。

【0046】(比較例1)ポリプロピレンフィルム(フィルム膜厚:60 μ m、二村化学株式会社製、FOP#60)をチャンバーに設置し、0.01ton以下に減圧した後、低温プラズマ(アルゴン0.1ton)を15秒間照射し、再び0.01ton以下に減圧し、更にメトキシエチルアクリレートなどのアルコキシアルキルアクリレートの単量体をガス状で供給し、288Kの温度で5分間表面グラフト重合を行った。グラフト重合後は、未反応の単量体を減圧脱気して、0.01ton以下にし、続いてプラズマ放電処理を0.1ton、20秒間(100W)行った。このようにして得られた膜をジクロロメタン/メタノール共沸溶媒で2日間洗浄した後、乾燥した。得られた試料について実施例1及び3と同様にヒト表皮細胞を播種し、基材上に表皮細胞は接着したが、ヌードマウスに移植しても生着しにくかった。

【0047】

【発明の効果】本発明の人工皮膚は多孔質膜基材上に、 γ 線あるいはマイトマイシンCで処理された増殖性がない動物由来の線維芽細胞が存在し、更に未分化の表皮基底細胞が単層化されており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することを可能にできる。また、本発明の人工皮膚は親水化処理された多孔質膜基材上に、未分化の表皮基底細胞が単層化されており、細胞を多孔質膜から剥すことなく、細胞側を皮膚欠損部の創面に移植することを可能にしたものである。

【 0 0 4 8 】 これら本発明の人工皮膚を皮膚欠損部へ移

植すると、治癒過程を著しく短縮することができる。